



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Ekvina sarkoider

Patogenes och smittspridning

Katrin Bergsten

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:36

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Ekvina sarkoider – patogenes och smittspridning

Equine sarcoids – pathogenesis and modes of transmission

Katrin Bergsten

Handledare:

Mikael Berg, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2011

Omslagsbild: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011:36
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: Ink, Sarkoid, Tumör, Häst, Patogenes, Smittspridning

Key words: Equine sarcoid, Tumor Horse, Pathogenesis, Transmission

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	4
Kliniskt utseende	4
Histologiskt utseende	4
Bovint papillomvirus	5
BPV-DNA i sarkoider	5
BPV infekterar även epidermis	5
Produktiv infektion?	6
BPV variant infekterar hästar	6
BPV hämmar immunförsvaret och inducerar en tumör	6
Smittspridning	8
DISKUSSION	10
LITTERATURFÖRTECKNING	12

SAMMANFATTNING

Ekvina sarkoider är vanligt förekommande hudtumörer hos hästar. De är normalt sett inte speciellt allvarliga men kan orsaka sekundära problem, minskad användning av hästen samt minskat värde på hästen. Patogenesen är fortfarande mycket oklar men Bovint papillomvirus (BPV) typ 1 och typ 2 anses ha en stor roll, men även andra faktorer spelar in. Papillomvirus är vanligtvis artspecifika, eventuellt är det en variant av BPV som ger upphov till sarkoider.

I sarkoider har BPV hittats i både epidermis och dermis. Möjligen sker en produktiv infektion, med bildning av nya viruspartiklar, i epidermis. BPV-infektionen ger en förändring i flera genuttryck, bland annat nedregleras flera viktiga delar i immunförsvaret.

Hästar utan sarkoider kan bära på BPV i huden, även om de inte vistas tillsammans med nöter eller sarkoidbärande hästar. BPV kan troligtvis spridas genom kontaktsmitta och via vektorer såsom bitande och icke-bitande flugor.

Det skulle behövas mer forskning på sarkoider, framför allt på vilka faktorer förutom BPV-infektion som spelar in i utvecklingen av en sarkoid.

SUMMARY

Equine sarcoids are common skin tumors among horses. They are usually not very serious but may cause secondary problems, reduced usage of the horse and decreased value of the horse. The pathogenesis is still unclear, however, Bovine papilloma virus (BPV) type 1 and type 2 are considered to play a major part, but other factors are at play as well. Papilloma virus is usually species-specific, it is possible that a BPV variant is the cause of sarcoids.

In sarcoids, BPV has been detected in both the epidermis and the dermis. There is a possibility that a productive infection occurs in the epidermis, resulting in new virions. The BPV infection causes an alteration in several gene expressions, for example several vital parts of the immune response are compromised. Horses without sarcoids can be carrying BPV in their skin even if they have not been in contact with bovids or horses that are carrying sarcoids. BPV is most likely spread through direct contact and by vectors like biting and non-biting flies.

More research needs to be done about sarcoids, mainly on which other factors are at play in the development of a sarcoid.

INLEDNING

Ekvina sarkoider är vanligt förekommande hudtumörer hos hästar, åsnor och mulor. Det är en lokalt aggressiv, benign fibroblastisk hudtumör som även kan involvera dermis och epidermis. De metastaserar inte men är ofta lokalt invasiva. Sarkoiderna är svårbehandlade eftersom de ofta återkommer efter både kirurgisk och medicinsk behandling (Ragland et al., 1970).

Eftersom tumörformen inte metastaserar är den normalt sett relativt ofarlig för hästen. Tumörerna kan dock bli stora (upp till 20 cm i diameter) och innebär ofta ett minskat värde på hästen på grund av ”skönhetsfelet”. En olämplig placering av tumören kan dessutom minska hästens användbarhet. Tumörer som sitter vid ögonen kan också påverka ögonlocksfunktionen, och sekundära infektioner i ulcererade sarkoider kan ge allvarligare problem.

Etiologin bakom sarkoider är inte helt klarlagd. Bovint papillomvirus (BPV) typ 1 och 2 anses dock ha en viktig roll, men även andra faktorer tros vara inblandade. För att kunna förhindra att hästar utvecklar sarkoider är det viktigt att veta hur tumören utvecklas, vilken roll BPV har och hur BPV sprids till och mellan hästar.

Syftet med denna litteraturstudie är att ta reda på vilken roll BPV har i uppkomsten av en sarkoid och hur smittspridning till och mellan hästar kan ske.

MATERIAL OCH METODER

Vid denna litteraturöversikt har databasen PubMed använts. Sökorden ”equine sarcoid” användes, vilket gav många träffar. Två översiktsartiklar hittades som senare användes för att hitta fler artiklar.

LITTERATURÖVERSIKT

Kliniskt utseende

Sarkoider kan ha ett mycket varierande utseende. De kan se likadana ut under en längre tid, men kan också utvecklas till en mer aggressiv form mycket snabbt. Knottenbelt (2005) har föreslagit en indelning av sarkoider i sex olika typer efter kliniskt utseende och allvarlighetsgrad. Ockulta sarkoider är den mildaste och ytligaste formen. De växer långsamt och karaktäriseras av alopeci (fläckvis hårlöshet), innehållande små kutana noduli (2-5 mm i diameter) eller mild hyperkeratos (onormalt ökad hornbildning i hudens ytskikt). Verrukösa sarkoider är mer vårtlika med hyperkeratos och mycket hudflagor. De kan bli extra allvarliga kring ögonen då lesionen kan tränga djupt ner i ögonlocksmuskulaturen och störa dess funktion, med sekundära ögonproblem som följd. Nodulära sarkoider (se figur 1) ses som fasta, sfäriska och väldefinierade noduli som sitter subkutant, antingen solitärt eller multipelt. De delas in i två typer beroende på hur mycket de involverar huden. Den fibroblastiska sarkoiden är helt eller delvis ulcererad (sårig) och ofta lokalt invasiv. De delas in i två typer beroende på om den har en smal eller bred bas. Blandade sarkoider består av en blandning av de olika typerna och är troligtvis ett progressivt stadium mellan de olika typerna. Malevolenta sarkoider beskrivs som en mer malign typ som kan infiltrera underliggande lymfkärl och sprida sig till lokala lymfknutor. Ingen av typerna metastaserar. Tumörerna kan uppkomma på hela hästens hud, men predilektion finns för områden med tunn hud såsom huvud, buk och ben (Knottenbelt, 2005).



Figur 1. Exempel på nodulär sarkoid (från http://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page).

Histologiskt utseende

Typiska förändringar som ses är hyperplasi (ökad cellbildning) i epidermis, hyperkeratos, rete pegs (breda invaginationer av epidermala celler in i dermis) och fibroblastisk proliferation i dermis (Martens et al., 2000). Försök har gjorts att koppla olika histologiska utseenden till de olika kliniska typerna, dock utan framgång (Martens et al., 2000).

Bovint papillomvirus

Bovint papillomvirus (BPV) tillhör familjen *Papillomaviridae*, som är ett dubbelsträngat DNA-virus, och innefattar endast ett genus, *Papillomavirus*. Infektioner med papillomvirus är ofta persistenta. Viruset är epiteliotroft och orsakar proliferativa lesioner (vårtor) hos många däggdjurs- och fågelarter, men vissa typer kan ibland ge upphov till neoplastiska förändringar. Lesionerna går vanligtvis tillbaka spontant efter några veckor eller månader, eftersom individen utvecklar ett cellmedierat immunförsvar. Viruset är vanligtvis artspecifikt och BPV-infektion hos ekvider är den enda hittills kända korsinfektionen (Quinn et al., 2002).

BPV-genomet består av tre regioner; en kontrollregion (LCR, long control region) som innehåller regulatoriska delar vilka är nödvändiga för replikation och transkription av det virala DNA:t, en region som innehåller tidiga gener (early genes, E) som kodar för icke strukturella proteiner, och en region med sena gener (late genes, L) som kodar för strukturella proteiner (Nasir och Campo, 2008).

BPV-DNA i sarkoider

En studie gjord av Otten et al. (1993) jämförde 58 histologiskt konfirmerade sarkoider med prover från 11 ekvina papillom, två melanom, fem odiagnostiserade hudåkommor samt normal hud i närheten av sarkoider. Studien undersökte förekomsten av BPV-DNA med hjälp av polymerase chain reaction (PCR). Alla sarkoiderna innehöll BPV-DNA, 55 av dessa (95 %) innehöll BPV typ 1 medan övriga tre (5 %) innehöll BPV typ 2. Ingen korrelation mellan kliniskt eller histopatologiskt utseende och BPV-typ kunde ses. Inget av de andra proverna resulterade i detekterbara PCR-produkter (Otten et al., 1993). Även andra studier har kommit fram till att BPV typ 1 är vanligast (Martens et al., 2000; Borzacchiello et al., 2008). En studie gjord i Kanada har dock visat på andra resultat. Av 74 BPV-positiva sarkoider innehöll 19 % BPV typ 1 medan 80 % innehöll BPV typ 2, en sarkoid innehöll både BPV typ 1 och typ 2 (Wobeser et al., 2010).

Förutom förekomst av BPV-DNA har flera studier också visat att BPV-gener uttrycks i sarkoider (Nasir & Reid, 1999; Nixon et al., 2005; Borzacchiello et al., 2008). Nasir och Reid (1999) undersökte 20 BPV-positiva sarkoider för förekomst av mRNA-transkript av generna E2, E5, E6, E7 och L1. E2 identifierades i 18 av de 20 tumörerna (90 %), L1 i 50 %, E5 i 80 %, E6 i 45 % och E7 i 60 % av tumörerna. Nixon et al. (2005) analyserade 39 sarkoider för förekomst av E6. mRNA-transkript hittades i 28 tumörer (72 %), alla 28 uttryckte också E5. Borzacchiello et al. (2008) undersökte uttrycket av E5 och E7 i 12 BPV-positiva sarkoider. De såg att E5 uttrycktes i nio av 12 tumörer (75 %), även E7 uttrycktes i nio tumörer. Detta tillför starka bevis för att BPV är inblandat i utvecklingen av sarkoider.

BPV infekterar även epidermis

Bogaert et al. (2010) har undersökt ifall det finns skillnader i hur epidermis och dermis är förändrade beroende på sarkoidens utveckling. 30 ockulta (tidigt stadium av sarkoid) och fem avancerade icke-ulcererande sarkoider samt fem biopsier från BPV-infekterad normal hud undersöktes. Alla avancerade sarkoider och 60 % av de ockulta visade karakteristiska

förändringar i både epidermis och dermis. Resterande ockulta sarkoider (40 %) samt alla biopsier från normal hud visade på förändringar i epidermis men inte i dermis.

Vidare undersöktes förekomsten av BPV-DNA i epidermis respektive dermis, genom att man åtskilde de båda hudlagren med laserteknik och analyserade dem med PCR. BPV-DNA hittades i keratinocyter i två av fem ockulta sarkoider och i två av fem biopsier från normal hud, men inte i någon av de mer avancerade sarkoiderna. Detta kan tyda på att BPV-infektionen startar i keratinocyter hos hästar, precis som vid de flesta papillomavirusinfektioner, men sedan när sarkoiden utvecklas förflyttar sig infektionen till dermis (Bogaert et al., 2010).

Brandt et al. (2011) har senare undersökt ifall även BPV-onkoproteiner kan hittas i epidermis, även virusmängden i epidermis respektive dermis analyserades. Tre nodulära och två fibroblastiska sarkoider analyserades. Onkoprotein E5 detekterades i neoplastiska fibroblaster samt i infekterade celler i epidermis. Även onkoproteinet E7 sågs i både neoplastiska fibroblaster och i celler i epidermis. Virusmängden varierade från två till 195 kopior/cell i epidermis och från 64 till 2628 kopior/cell i dermis. Epidermis i de nodulära sarkoiderna innehöll dock högre (26-195 kopior/cell) mängder virus DNA än epidermis i de fibroblastiska sarkoiderna (två kopior/cell) (Brandt et al., 2011).

Produktiv infektion?

Hos nöt är en BPV-infektion produktiv och det bildas nya virioner. Hos häst har man hittills inte detekterat några virioner och därför anses BPV-infektion hos häst vara icke-produktiv. Brandt et al. (2011) har dock påvisat kapsidproteinet L1 i epidermis hos sarkoider. Två nodulära sarkoider undersöktes med L1-specifika antikroppar och L1 påvisades i båda sarkoiderna. Eftersom kapsidproteinet behövs för nya virioner ska kunna bildas kan detta tyda på att en produktiv infektion sker även hos hästar.

BPV-variant infekterar hästar

Nasir et al. (2007) har analyserat BPV typ 1 DNA med avseende på sekvensvarianter inom LCR (long control region). LCR fyller en viktig funktion hos papillomvirus eftersom den kontrollerar transkriptionen hos viruset. Nukleotidsekvensen i BPV-1 LCR från 35 sarkoider bestämdes och fem olika varianter hittades (variant I, II, III, IV och V). Ingen av dessa var identisk med referenssekvensen. Variant II var vanligast (66 %). Analys av prover från 14 BPV-orsakade bovina tumörer visade att tre av dessa var identiska med referenssekvensen, att sju stycken innehöll variant IV och att resterande fyra prover innehöll en variant som inte sågs i sarkoiderna, variant VI (Nasir et al., 2007).

BPV hämmar immunförsvaret och inducerar en tumör

In vitro-studier (Yuan et al., 2008) har visat att flertalet gener har ett förändrat uttryck i BPV-infekterade ”sarkoid cellinjer”. Dessa gener är inblandade i bland annat immunförsvaret, cellproliferation och apoptos och kan vara en viktig del i patogenesen.

Nedreglerade gener

Flera immunförsvargener är nedreglerade, till exempel major histocompatibility complex I (MHC I), toll-like receptor 4 (TLR-4) och interleukin 12B (IL-12B), vilket leder till ett nedsatt lokalt immunförsvaret vid en BPV-infektion. TLR-4 är en del av det medfödda immunförsvaret och känner normalt igen vissa strukturer som är vanliga hos patogener. Detta sätter igång ett riktat immunförsvaret. Nedreglering av TLR-4 tros medverka till persisterande virus och återkommande tumörer. MHC I är en viktig del i det adaptiva immunförsvaret där det presenterar antigena peptider för cytotoxiska T-lymfocyter, vilket sätter igång ett immunsvaret. Minskat uttryck av MHC I tros leda till att BPV-infektionen får möjlighet att etableras och infekterade celler undgår immunförsvaret (Yuan et al., 2008). Marchetti et al. (2009) har visat att BPV-1 onkogen E5 dels hämmar transkription av MHC I (heavy chain) och dessutom att färdiga MHC I komplex kvarhålls i golgiapparaten och hindras från att nå cellytan. Cytokinet IL12B är en nyckelregulator i det cellmedierade immunförsvaret. Nedreglering bör leda till ett försvagat immunsvaret mot BPV-infektionen (Yuan et al., 2008).

Uppreglerade gener

Flertalet kemokiner, bland annat CXCL5, är uppreglerade i sarkoidceller. Kemokiner ingår i en grupp små cytokiner som är en viktig del i rekryteringen av celler som behövs för aktivering av inflammatoriska och immunologiska svar, de verkar också ha en funktion i utvecklingen av tumörer. Kemokin CXCL5 medverkar till tumörcellers proliferation, migration och invasion. Detta tillsammans med uppreglering av andra kemokiner medverkar troligtvis till en förändrad mikromiljö i tumören, en förenkling av sarkoidens tillväxt och invasion samt till att sarkoiden återkommer (Yuan et al., 2008).

Andra uppreglerade gener är generna för MMP-1, c-src tyrosin kinas, inhibitor of apoptosis 1 (c-IAP-1) samt high mobility group AT-hook 1 (HMGA1). MMP-1 är ett kollagenas som bryter ner interstitiellt kollagen, vilket bidrar till lokal invasion och spridning av tumörceller till närliggande vävnad. MMP-1 främjar även angiogenesen. c-IAP-1 blockerar celldöd och en uppreglering bör leda till att apoptotiska svar i sarkoiden hämmas. Cellerna med aktiverat c-src är mer rörliga och invasiva, vilket kan medverka till en ökad spridning av tumören. HMGA1 har många funktioner, t ex inhibering av p53-medierad apoptos (Yuan et al., 2008).

Onkoproteinet E5 identifieras i majoriteten av BPV-positiva tumörer, oavsett vilken BPV-typ som identifierats. Proteinet ses mest i cytoplasman hos neoplastiska celler och framför allt i närheten av kärnan. Hos majoriteten av de sarkoider som uttrycker E5 ses också ett uttryck av platelet-derived Growth Factor- β Receptor (PDGF- β R) (Borzacchiello et al., 2008). PDGF- β R kan i aktiverad form sätta igång en signaltransduktionsväg som leder till aktivering av molekyler inblandade i onormal cellcykel-kontroll och onkogen transformation. Uttrycket av PDGF- β R är förhöjt i sarkoid-celler jämfört med i normala celler. Detsamma gäller för proteinet p85-PI3K, som aktiverar PDGF- β R genom att bilda ett stabilt komplex med den. Även molekyler längre ner i transduktionsvägen har förhöjt uttryck (Borzacchiello et al., 2009).

P53 är inte muterad

Mutationer i p53-genen är vanligt i de flesta sorters tumörer. P53 är ett cellcykelreglerande protein som stoppar celledelning när cellens DNA är skadat. Studier gjorda av Bucher et al. (1996) tyder dock på att p53 inte är muterad i sarkoider. Bucher et al. (1996) analyserade 28 sarkoid-bärande hästar för p53-mutationer men hittade varken somatiska- eller könscecellsmutationer. Martens et al. (2000) har dock visat att p53-nivåerna kan vara förhöjda i sarkoider och analys av 50 sarkoider visar att 44 % har ett förhöjt uttryck av p53. Immunohistokemisk färgning visar dock att p53 huvudsakligen befinner sig utanför kärnan, i cytoplasman, där den inte kan utöva sin funktion (Martens et al., 2000). Nixon et al. (2005) analyserade 22 sarkoider som visade en tydlig ackumulering av både nukleärt och cytoplasmiskt p53-protein vid immunocytokemi. Vidare undersökte de förmågan hos p53 att svara på genotoxisk stress. Sarkoidceller och friska njurceller (som kontroll) utsattes för UV-ljus. P53-transkript ökade i njurcellerna men inte i sarkoidcellerna vilket tyder på att p53-funktionen är nedsatt i sarkoider (Nixon et al., 2005).

Smittspridning

BPV finns på normal hud hos sarkoid-bärande hästar

Vid undersökning (Bogaert et al., 2005) av förekomst av BPV-DNA på huden med hjälp av svabbprover har man sett att 91 % av ulcererande sarkoider var positiva för BPV på ytan. Prover på sarkoid-drabbade hästar togs också på normal hud precis bredvid sarkoiden, på hud som var i kontakt med sarkoiden (t ex hud på ventrala delarna av buken hos hästar med sarkoider på de kraniala delarna av bakbenet) samt på hud som inte var i kontakt med sarkoiden. Detta visade att hud som är i kontakt med sarkoidens yta med större sannolikhet är positiva för BPV-DNA än hud som inte är i kontakt med sarkoiden. Detta tyder på BPV-DNA kan spridas från en yta till en annan och att kontaktsmitta bör kunna ske (Bogaert et al., 2005).

Latent BPV-infektion?

I en studie (Bogaert et al., 2008) undersöktes förekomsten av BPV-DNA, genom biopsi, i normal hud hos fyra olika grupper av hästar, de med sarkoider, de som levde i kontakt med hästar med sarkoider, de som levde i kontakt med nöt, och en kontrollgrupp. 73 % av hästarna med sarkoider bar på BPV-DNA i normal hud. Hos 52 % av alla hästar utan sarkoider sågs förekomst av BPV-DNA, 39 % bar också på BPV-mRNA. Gruppen som levde med nöt hade signifikant högre förekomst av BPV-DNA, 73 % (64 % var även mRNA-positiva), medan kontrollgruppen hade en förekomst på 30 % (20 % mRNA-positiva). Mängden BPV-mRNA var dock mycket lägre i normal hud än i sarkoider. Trots fynd av BPV-mRNA sågs inga histopatologiska förändringar (Bogaert et al., 2008). I en tidigare studie (Bogaert et al., 2005), gjord enbart med svabbprover på intakt normal hud, var 44 % av proverna från hästar som levde i kontakt med sarkoidbärande hästar positiva för BPV-DNA medan inga positiva prov hittas bland hästar som lever i kontakt med nöt, förutom hos en häst som stod tillsammans med en ko med aktiv papillomatos. Hos hästar som inte levde i kontakt med varken nöt eller sarkoidbärande hästar kunde inget BPV detekteras i svabbproverna (Bogaert et al., 2005).

BPV-förekomst i blodceller

Brandt et al. (2008) undersökte förekomsten av BPV-DNA i perifera mononukleära blodceller (PBMC) hos sarkoidbärande hästar. Blod från fyra hästar med sarkoider analyserades efter förekomst av generna E5 och L1 med en mycket känslig PCR metod. E5-DNA hittades hos de sarkoidbärande hästarna men inte hos den negativa kontrollen, alla proverna var negativa för L1. Senare gjordes även ett blindtest på 66 hästar. Tre av dessa var positiva för E5 i PBMC medan resten var negativa. Dessa tre individer var de enda av de 66 som hade sarkoider (Brandt et al., 2008). Tidigare analyser av BPV förekomst i blod har haft negativa resultat (Bogaert et al., 2008).

BPV hittat i flugor

Undersökningar (Finlay et al., 2009) av flugor, fångade i stallmiljö, har visat att de kan bära på BPV-DNA. Flugorna tillhörde arter av både bitande (*Stomoxys calcitrans*) och icke-bitande (*Fannia carnicularis* och *Musca domestica*) flugor. Den vanligaste varianten som detekterades i flugorna var BPV-1 LCR variant II (Finlay et al., 2009) vilken också är den vanligaste varianten hos ekvider (Nasir et al., 2007). Denna variant är ovanlig hos nöt (Nasir et al., 2007). Att flugor kan bära på BPV-DNA tyder på att de kan fungera som vektorer för viruset och därmed vara en viktig del i smittspridningen (Finlay et al., 2009).

DISKUSSION

Ekvina sarkoider är en vanligt förekommande tumör hos häst, rapporterad prevalens varierar från 13-67 % av alla ekvina tumörer (Nasir L. och Campo MS. 2008). De är oftast inte speciellt farliga för hästen, men innebär ett minskat värde på hästen, minskad användbarhet samt kan orsaka sekundära problem. De är svåra att behandla eftersom de ofta återkommer (Ragland et al., 1970). Det är därför av intresse att veta hur de uppkommer. BPV är med största sannolikhet inblandat, BPV-DNA har hittats i upp till 100 % av testade sarkoider (Ottens et al., 1993) och många studier har också hittat mRNA från flera viktiga BPV-gener i sarkoider (Nasir & Reid, 1999; Nixon et al., 2005; Borzachiello et al., 2008). De BPV-typer som har satts i samband med sarkoider är BPV typ 1 och typ 2, flera studier har visat att typ 1 är vanligast (Ottens et al., 1993; Martens et al., 2000; Borzacchiello et al., 2008). En studie från Kanada har dock visat på att typ 2 är vanligast (Wobeser et al., 2010). Det kan säkert vara så att de två typerna är olika vanliga på olika platser i världen.

Papillomvirus är normalt sett artspecifika och BPV-infektion hos häst är den enda hittills kända korsinfektionen (Quinn et al., 2002). Därav har frågan kommit upp om det är en variant av BPV som ger upphov till sarkoider hos hästar. Nasir et al. (2007) har visat att det framför allt är variant II som går på hästar och att denna variant inte förekommer hos nöt. Urvalet kan dock anses vara litet, då enbart 35 sarkoider och 14 BPV-orsakade bovina tumörer analyserades. Fler undersökningar bör göras på ett större urval för att se om variant II fortfarande är vanligast och inte förekommer hos nöt.

BPV-infektioner på nöt ger en produktiv infektion i både dermis och epidermis. På häst har man däremot länge ansett att det sker en icke-produktiv infektion, enbart i dermis. Nyligen gjorda studier (Bogaert et al., 2010; Brandt et al., 2011) har dock visat på att även sarkoider skulle kunna vara en produktiv infektion i epidermis, som senare övergår till en icke-produktiv infektion i dermis. Bogaert et al. (2010) har visat att 40 % av tidiga stadier av sarkoider (ockulta) samt BPV-infekterad normal hud enbart har histologiska förändringar i epidermis, medan resterande 60 % av ockulta sarkoider samt alla avancerade sarkoider har förändringar i både epidermis och dermis. Bogaert et al. (2010) visade i samma studie att BPV-DNA kan detekteras i keratinocyter i två av fem ockulta sarkoider samt i två av fem prover från BPV-infekterad normal hud, men inte i någon av de avancerade sarkoiderna. Undersökningar har senare gjorts för att se om även onkoproteiner kan hittas i epidermis (Brandt et al., 2011). Onkoproteiner E5 och E7 detekterades i både epidermis och dermis. Man såg också att nodulära sarkoider innehåller en högre mängd virus-DNA i epidermis än de fibroblastiska sarkoiderna. Vidare har författarna även påvisat kapsidproteinet L1 i epidermis i två nodulära sarkoider.

Uttrycket av flertalet gener är förändrade i sarkoider (Yuan et al., 2008). Nedregleringen av generna för MHC I, TLR-4 och IL-12 medverkar till ett sämre lokalt immunförsvar vilket gör att BPV undviker immunförsvaret och kan på så sätt persistera i huden. De uppreglerade generna (MMP-1, c-src, c-IAP-1 samt HMGA1) medverkar till invasion av närliggande vävnad, spridning av tumörceller, hindrande av celdöd och inhibering av p53-medierad

apoptos. Uppreglering av PDGF- β R medverkar till onormal cellcykelkontroll samt tumörbildning. P53 är inte muterad i sarkoider (Bucher et al., 1996), men undersökningar visar på en nedsatt funktion hos p53 (Nixon et al., 2005).

Sarkoider är svåra att behandla och återkommer ofta efter behandling. Det är därför av intresse att veta ifall de kan spridas mellan hästar och i så fall hur. Eftersom BPV-infektioner är vanliga på nöt är det också intressant huruvida hästar kan smittas av att gå tillsammans med nöt.

Utbrott av sarkoider i hästflockar och flockar av mulor har setts (Ragland et al., 1970), så någon form av smittspridning mellan ekvider bör ske. Det är dock vanligt att hästar bär på BPV utan att själva ha sarkoider vilket tyder på att även andra faktorer måste vara inblandade. Bogaert et al. (2005) har visat att kontaktsmitta bör kunna förekomma. Författarna visade att BPV kan detekteras på normal hud som har varit i direkt kontakt med en ulcererad sarkoid. Studien visade också att man på hästar som lever tillsammans med sarkoidbärande hästar kan detektera BPV i svabbprover, men inte hos hästar som varken varit i kontakt med nöt eller sarkoidbärande hästar. Senare studier (Bogaert et al., 2008) har genom analys av biopsier dock visat att även hästar utan kontakt med varken sarkoidbärande hästar eller med nöt kan bära på BPV, men att hästar som levde tillsammans med nöt med större sannolikhet bar på BPV.

Både bitande och icke-bitande flugor har visats bära på BPV-DNA (Finlay et al., 2009). Den variant av BPV som var vanligast hos flugorna (variant II) är också den variant som är vanligast hos häst men som inte har detekterats hos nöt (Nasir et al., 2007). Brandt et al. (2008) har detekterat BPV-DNA i perifera mononukleära blodceller (PBMC) hos sarkoidbärande hästar. Hästar utan sarkoider bar inte på BPV i PBMC. Förekomst av BPV i PBMC hos sarkoidbärande hästar, på huden hos både friska och ”sjuka” hästar samt förekomst i både bitande och icke bitande flugor tyder på att insekter kan fungera som vektorer för viruset.

Hästar som går med nöt har hög sannolikhet att bära på BPV, man har dock visat att den variant som är vanligast i sarkoider inte är vanlig på nöt. Det hade därför varit intressant att undersöka vilka varianter av BPV som är vanliga hos hästar som går med nöt eftersom dessa kanske bär på en variant som är mindre benägen att utveckla en sarkoid.

Sammanfattningsvis är patogenesen för sarkoider fortfarande mycket osäker. BPV har en stor roll men det krävs sannolikt fler faktorer för att en tumör ska utvecklas eftersom hästar kan bära på viruset utan att utveckla sarkoider. Mer forskning behövs för att man helt ska förstå uppkomsten av denna tumör och därmed kanske kunna behandla den lättare. Både kontaktsmitta mellan hästar och vektorburen smitta med flugor bör kunna ske, men det krävs mer än bara BPV-smitta för att hästen ska utveckla en sarkoid. Forskning på dessa ännu okända faktorer skulle vara intressant för att lättare förstå varför en viss häst utvecklar sarkoider och för att om möjligt kunna minska risken för dessa hästar att smittas med BPV.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Bogaert, L., Martens, A., De Baere, C., Gasthuys, F. (2005). Detection of bovine papillomavirus DNA on the normal skin and in the habitual surroundings of horses with and without equine sarcoids. *Research in Veterinary Science*, 79, 253-258.
- Bogaert, L., Martens, A., Kast Wijbe, M., Van Marck, E., De Cock, H. (2010). Bovine papillomavirus DNA can be detected in keratinocytes of equine sarcoid tumors. *Veterinary Microbiology*, 146, 269-275.
- Bogaert, L., Martens, A., Van Poucke, M., Ducatelle, R., De Cock, H., Dewulf, J., De Baere, C., Peelman, L., Gasthuys, F. (2008). High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. *Veterinary Microbiology*, 129, 58-68.
- Borzacchiello, G., Mogavero, S., De Vita, G., Roperto, S., Della Salda, L., Roperto, F. (2009). Activated Platelet-Derived Growth Factor β Receptor Expression, PI3K-AKT Pathway Molecular Analysis, and Transforming Signals in Equine Sarcoids. *Veterinary Pathology*, 46, 589-597.
- Borzacchiello, G., Russo, V., Della Salda, L., Roperto, S., Roperto, F. (2008). Expression of Platelet-derived Growth Factor- β Receptor and Bovine Papillomavirus E5 and E7 Oncoproteins in Equine Sarcoid. *Journal of Comparative Pathology*, 139, 231-237.
- Brandt, S., Haralampus, R., Schoster, A., Kirnbauer, R., Stanek, C. (2008). Peripheral blood mononuclear cells represent a reservoir of bovine papillomavirus DNA in sarcoid-affected equines. *Journal of General Virology*, 89, 1390-1395.
- Brandt, S., Tober, R., Corteggio, A., Burger, S., Sabitzer, S., Walter, I., Kainzbauer, C., Steinborn, R., Nasir, L., Borzacchiello, G. (2011). BPV-1 infection is not confined to the dermis but also involves the epidermis of equine sarcoids. *Veterinary Microbiology*, doi:10.1016/j.vetmic.2010.12.021
- Bucher, K., Szalai, G., Marti, E., Griot-Wenk, M.E., Lazary, S. (1996). Tumour suppressor gene p53 in the horse: identification, cloning, sequencing and a possible role in the pathogenesis of equine sarcoid. *Research in Veterinary Science*, 61, 114-119.
- Finlay, M., Yuan, Z.Q., Burden, F., Trawford, A., Morgan, I.M., Campo, M.S., Nasir, L. (2009). The detection of Bovine Papillomavirus type 1 DNA in flies. *Virus Research*, 144, 315-317.
- Knottenbelt, D.C. (2005). A Suggested Clinical Classification for the Equine Sarcoid. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4, 278-295.
- Marchetti, B., Gault, E.A., Cortese, M.S., Yuan, Z.Q., Ellis, S.A., Nasir, L., Campo, M.S. (2009). Bovine papillomavirus type 1 oncoprotein E5 inhibits equine MHC class I and interacts with equine MHC I heavy chain. *Journal of General Virology*, 90, 2865-2870.
- Martens, A., De Moor, A., Demeulemeester, J., Ducatelle, R. (2000). Histopathological characteristics of five clinical types of equine sarcoid. *Research in Veterinary Science*, 69, 295-300.
- Nasir, L., Campo, M.S. (2008). Bovine papillomaviruses: their role in the aetiology of cutaneous tumours of bovids and equids. *Veterinary Dermatology*, 19, 243-254.
- Nasir, L., Gault, E., Morgan, I.M., Chambers, G., Ellsmore, V., Campo, M.S. (2007). Identification and functional analysis of sequence variants in the long control region and the E2 open reading frame of bovine papillomavirus type 1 isolated from equine sarcoids. *Virology*, 364, 355-361.
- Nasir, L., Reid, S.W.J. (1999). Bovine papillomaviral gene expression in equine sarcoid tumours. *Virus Research*, 61, 171-175.
- Nixon, C., Chambers, G., Ellsmore, V., Campo, M.S., Burr, P., Argyle, D.J., Reid, S.W.J., Nasir, L. (2005). Expression of cell cycle associated proteins cyclin A, CDK-2, p27kip1 and p53 in equine sarcoids. *Cancer Letters*, 221, 237-245.

- Otten, N., von Tscharnner, C., Lazary, S., Antczak, D.F., Gerber, H. (1993). DNA of bovine papillomavirus type 1 and 2 in equine sarcoids: PCR detection and direct sequencing. *Archives of Virology*, 132, 121-131.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J., Leonard, F.C. (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 1. uppl. Cornwall: Blackwell science Ltd. sid.
- Ragland, W.L., Keown, G.H., Spencer G.R. (1970). Equine Sarcoid. *Equine Veterinary Journal*, 2, 2-11.
- Wobeser, B.K., Davies, J.L., Hill, J.E., Jackson, M.L., Kidney, B.A., Mayer, M.N., Townsend, H.G.G., Allen, A.L. (2010). Epidemiology of equine sarcoids in horses in western Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 51, 1103-1108.
- Yuan, Z.Q., Nicolson, L., Marchetti, B., Gault, E.A., Campo, M.S., Nasir, L. (2008). Transcriptional Changes Induced by Bovine Papillomavirus Type 1 in Equine Fibroblasts. *Journal of Virology*, 82, 6481-6491.